昆虫抗菌肽和抗真菌肽结构与功能的关系及分子设计

肖业臣[1,4]，温硕洋[2]，黄亚东[3]，杨婉莹[1]，曹 阳[1*]

（1. 华南农业大学蚕学分子生物学与生物技术实验室，广州 510642； 2. 华南农业大学昆虫学系基因多样性实验室，广州 510642； 3. 暨南大学医药生物技术研究开发中心，广州 510632； 4. 中山大学生命科学学院，广州 510275）

摘要：在对 GenBank 和 EMBL 数据库中登录的昆虫抗微生物肽（antimicrobial peptide，AMP），即昆虫抗菌肽（antibacterial peptide）和抗真菌肽（antifungal peptide，AFP）进行归类整理的基础上，对天蚕素族(cecropins)抗菌肽结构与功能的关系及人工改造的分子设计策略，特别是对目前新发现的一些昆虫抗真菌肽的已知结构与功能关系的研究进展、存在问题等进行了简要介绍和分析，为从事昆虫抗微生物肽的理论研究和发展新型抗生素药物提供了必要的信息。

关键词：昆虫；抗菌肽；抗真菌肽；分子设计

中图分类号：Q78 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2004)05-0659-11

The relationships between the structure and function of insect antibacterial peptides and antifungal peptides and molecular design

XIAO Ye-Chen[1,4]，WEN Shuo-Yang[2]，HUANG Ya-Dong[3]，YANG Wan-Ying[1]，CAO Yang[1*]（1. Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology of Sericulture，South China Agricultural University，Guangzhou 510642，China；2. Laboratory of Gene Diversity，Department of Entomology，South China Agricultural University，Guangzhou 510642，China；3. Biopharmaceutical Research and Development Center，Jinan University，Guangzhou 510632，China；4. School of Life Sciences，Sun Yat-Sen University，Guangzhou 510275，China）

Abstract：Insect antimicrobial peptides（AMP），including antibacterial peptides and antifungal peptides（AFP），are classified based on the accession sequences registered in GenBank and EMBL databases，and the relationships between the molecular structure and function of cecropin family and their molecular design strategies were summarized. The research progress and the challenging problems concerning the relationships between the known molecular structure and function of some newly identified antifungal peptides were introduced and analyzed. Such information will be useful not only for the basic studies of antimicrobial peptides but also for developing novel antibiotic drugs in the near future.

Key words：Insect；antibacterial peptide；antifungal peptide；molecular design

昆虫抗菌肽(antibacterial peptide)最初被发现主要对细菌具有高效广谱抗性，所以严格讲应称为昆虫抗细菌肽，通俗则称为昆虫抗菌肽。后来陆续发现这些昆虫抗菌肽中有的还兼具抗真菌、抑病毒、抑原虫和癌细胞的活性(徐进署和张双全，2002)，据此学术界最近更倾向于称为昆虫抗微生物肽(antimicrobial peptide，AMP)(Lamberty *et al*.，1999，2001)。目前发现的昆虫抗微生物肽主要有 5 大类，分别是天蚕素族(cecropins)、防御素族(defensins)、富含脯氨酸的抗菌肽类(proline-rich peptides)、富含甘氨酸的抗菌肽类(glycine-rich peptides)和末端开环类多肽(open-ended cyclic peptides)(卢晓风等，1999；Lamberty *et al*.，1999，2001)。

已报道的昆虫抗微生物肽中，绝大多数对丝状真菌(filamentous fungi)无明显的抑杀作用。近 10 年间，陆续新发现鉴定了 10 多种主要对丝状真菌和酵母具有抗性的昆虫多肽，同时由原已发现的一些昆虫抗菌肽中，最近又不断鉴定到它们有的还兼有抗真菌的活性(Lucca and Bland，1997；Cavallarín *et al*.，1998；Ekengren and Hultmark，1999)。这些抗真

基金项目：国家自然科学基金项目（30170146）；广东省自然科学基金项目（010294）；广东省科技计划项目（2003C104042）

作者简介：肖业臣，男，1976 年 10 月生，硕士，昆虫分子生物学方向，现为中山大学生命科学学院博士研究生，E-mail：yechenxiao2400@yahoo.com.cn

* 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：caoyang@scau.edu.cn

收稿日期 Received：2003-11-08；接受日期 Accepted：2004-03-30

菌或兼抗细菌的昆虫抗微生物肽被专称为昆虫抗真菌肽(antifungal peptide, AFP)。

迄今为止,已报道的昆虫抗微生物肽有200多种(Lamberty *et al.*, 2001),涉及鳞翅目(Lepidoptera)、双翅目(Diptera)、鞘翅目(Coleoptera)、半翅目(Hemiptera)、等翅目(Isoptera)和膜翅目(Hymenoptera)共6个目的昆虫。其中仅由GenBank和EMBL数据库检索到2003年12月已登录的昆虫抗菌肽序号107个,经合并不同登录序号的同一抗菌肽后,实际上为74种(见附录1);新发现或被重新鉴定的抗真菌或兼抗细菌的昆虫抗真菌肽有32种,其中新发现的昆虫抗真菌肽12种(见附录2)。

目前对昆虫抗菌肽,特别是有关天蚕素族(cecropins)抗菌肽结构与功能的关系、人工改造的分子设计等研究较为深入,但对昆虫抗真菌肽的研究才刚刚起步,关于它们的结构与功能的关系,目前尚无比较清晰的结果。由于人工改造的分子设计和突变修饰分析是研究昆虫抗微生物肽结构与功能关系的基本研究方法,因此本文作者拟就目前这方面研究的一些基本情况进行综述和分析,就其已知的氨基酸序列结构与功能的关系,进行人工改造的分子设计策略等进行简要介绍,为从事昆虫抗微生物肽的理论研究和发展新型抗生素药物提供必要的信息。

1 天蚕素族抗菌肽结构与功能的关系及分子设计策略

天蚕素族抗菌肽是目前发现的5大类昆虫抗菌肽中最大的两个家族之一(另一个是昆虫防御素族),它主要发现于鳞翅目昆虫,在其他目昆虫中也有发现,如双翅目的果蝇 *Drosophila melanogaster*、麻蝇 *Sarcophaga peregrina*、膜翅目昆虫的意大利蜜蜂 *Apis mellifera* 等。天蚕素族抗菌肽为一类分子量在4 kD左右的碱性耐热短肽,对革兰氏阳性和阴性细菌均有杀灭作用,以由惜古比天蚕 *Hyalophora cecropia* 中鉴定的cecropin A-F为典型代表。

蛋白质的结构与功能是密切相关的,对来自不同昆虫的天蚕素族抗菌肽而言,一级结构存在很多相似之处。它们的N端富含亲水性的氨基酸残基,特别是碱性氨基酸如Arg(精氨酸)和Lys(赖氨酸);而C端则含有较多的疏水性氨基酸残基,其末端都酰胺化,C端的酰胺化对抗菌肽保持广谱抗性有重要作用(张双全等,1998)。另外它们大都具备两个共同特征:一是阳离子肽;二是活性结构为两亲极性。在许多特定的离子通道蛋白、信号肽和抗菌肽的膜识别部位均发现有两亲的(amphiphilic)α-螺旋结构,抗菌肽两亲的螺旋结构中几乎含有等量的极性和非极性的氨基酸残基以及足够的碱性氨基酸残基,使多肽在中性时具有净正电荷(Christensen *et al.*, 1988)。

许多研究表明,α-螺旋结构对抗菌肽维持其活性是必需的,特别是那些与膜结合的多肽尤其需要稳定的α-螺旋结构。对来自果蝇的抗菌肽drosocin和来自无膜翅始红蝽 *Pyrrhocoris apterus* 的抗菌肽pyrrhocoricin的分析表明,它们分别由19个和22个氨基酸残基组成,两种抗菌肽中Pro(脯氨酸)含量均达到30%,而且都在第11位氨基酸残基Thr(苏氨酸)上发生了糖基化作用(Bulet *et al.*, 1993; Cociancich *et al.*, 1994)。用蛋白酶除去分子中的糖基,抗菌肽活性则随之消失,这表明糖基化对维持抗菌肽的活性是必需的(张双全等,1998)。另一类来自红尾碧蝽 *Palomena prasina* 的抗菌肽metalnikowin与drosocin和pyrrhocoricin有较高的同源性,但分子中无苏氨酸残基,无糖链结构。而且metalnikowin只表现出抑制细菌生长的作用,而drosocin和pyrrhocoricin则表现出杀死细菌的活性(Bulet *et al.*, 1993; Chernysh *et al.*, 1996)。

综上所述,对抗菌肽人工改造的分子设计策略可归纳为:一是通过比较已知结构的具有α-螺旋结构域的天然抗菌肽序列提出序列模型,使之具有合适的肽链长度、正电荷、α-螺旋,尽可能增大多肽的两亲极性,则可能获得活性更高,抗菌谱更广的抗菌肽(卢晓风等,1999;庞英明等,2001);二是以天然抗菌肽的结构功能关系为依据,应用组合化学库的方法有选择性地模拟合成抗菌肽的系列类似物,这些类似物的特点包括了一个或多个序列位置上的氨基酸残基突变,肽链缩短,C末端酰胺化,或由两种天然抗菌肽形成的杂合肽等,从而获得活性更高的抗菌肽(庞英明等,2001)。

对抗菌肽进行人工改造的上述分子设计策略,随着生物信息学的发展,通过互联网和计算机软件的比较和分析,可加快其设计速度,提高其设计的科学性和有效性,从而设计合成出活性更强的抗菌肽分子。首先利用NCBI的Clustal X程序,以Fasta格式输入多个抗菌肽分子序列,比较抗菌肽分子的一级和二级结构保守氨基酸;其次利用蛋白质分析软件Anth-prot,使用Garnier算法预测肽段的二级结

构，并用 Hydrophobicity 计算出该肽段亲水和疏水位点，用 Helic Wheel 获得三维螺旋结构，并分析螺旋两侧和整体的亲水和疏水状态；第三步则使用 Swiss PDB viewer 软件，结合互联网的数据库进行空间结构的预测和静电势的计算等；最后根据一级保守结构确定抗菌肽的基本框架，在保守氨基酸位置逐个填入替代氨基酸，使新设计的抗菌肽达到抗菌肽分子应有的基本抗菌性质；然后再考虑增强分子的抗菌活性和分子的稳定性，如 N 末端能形成更强的两亲 α-螺旋的趋势，带电荷的氨基酸与不带电荷的氨基酸螺旋两侧分布更为合理，C 端 α-螺旋的疏水性（酰胺化）更强等（蔡青松等，2002）。

2　天蚕素族抗菌肽分子设计研究进展举例

郑青等（1998）将 cecropin A 的 N 末端 11 个氨基酸残基片段和 cecropin D 的 C 末端 26 个氨基酸残基片段连接构建抗菌肽 AD，根据抗菌肽 AD 的氨基酸序列，选用酵母偏爱密码子，设计合成了抗菌肽 AD 基因，在酵母中高效表达，表达产物活性高于 cecropin A 和 cecropin D。黄亚东等（2002a）采用 PCR 定点诱变技术改造抗菌肽 AD 基因，将其 C 末端酰胺化为 Asn（天冬酰胺），改造后的抗菌肽 cecropin AD 基因克隆到 pPICZα-A 载体上，构建重组酵母分泌型表达载体，转化毕赤酵母 *Pichia pastoris* 受体菌 GS115 中表达，表达产物具有较强的杀菌活性。Andreu 等（1992）通过化学方法将 cecropin A 的 N 末端 1～7 位氨基酸残基与蜂毒肽（melittin）的 N 末端 5～12 位氨基酸残基连接起来，这样得到的杂合肽（CAM）大小只相当于天然 cecropin A 的 40%，但其抗菌活性却大大增强了，增强的原因与蜂毒肽有关，因为蜂毒肽的 N 末端也具有疏水性，可垂直插入到细菌质膜内，导致细菌死亡。李燕红等（1999）将该杂合肽（CAM）在大肠杆菌分泌表达，显示具有热稳定性，而没有抗原性和蜂毒肽的溶血作用等特点。

将抗菌肽 CMIV 基因和它的突变基因 X（在 CMIV 基因的 C 端加了一个天冬酰胺）分别克隆到谷胱甘肽转移酶（GST）融合表达载体中，用不同的切割试剂切割后得到 N 端具有附加氨基酸残基的抗菌肽 CMIV 以及 C 末端未酰胺化的抗菌肽 CMIV，这些多肽均无活性，而 N 端无附加氨基酸残基，但 C 末端加进了一个天冬酰胺的多肽则有抗菌活性（窦非等，2000）。由此可知，N 末端由于附加氨基酸而破坏了两亲螺旋结构，并增加了 N 端的柔韧性和摆动性，造成 N 端难于插入膜中而失去抗菌活性；C 末端酰胺化对抗菌肽的活性至关重要，酰胺化的末端增加了抗菌肽的净电荷，使抗菌肽与细胞膜相互吸引，继而引起 N 端的插入（窦非等，2000）。N 端的 11 个氨基酸残基形成一种强正电荷的两亲性螺旋，插入细胞膜，破坏膜的有序结构和稳定性，导致细胞膜最终破裂，将抗菌肽 N 端的 11 个氨基酸残基去除，整个抗菌肽的活性也将丧失。胡云龙等（1999）采用寡核苷酸介导的定点诱变法，对天蚕抗菌肽 cecropin B 基因 13 位的 Met（甲硫氨酸）诱变为 Leu（亮氨酸）或 Val（缬氨酸），保留第一位上的 Met，将诱变后的基因与 pGEX-4T-2 融合表达载体中的 GST 基因融合表达，抑菌实验表明，表达产物仍然具有较强的杀伤细菌的作用。

3　昆虫抗真菌肽的二级和三级结构特征

由于发现和鉴定昆虫抗真菌肽的研究只是近 10 年的事，目前对昆虫抗真菌肽的杀菌机理、作用方式及结构与功能的关系等知之不多，这里仅就有关文献对某些抗真菌肽结构与功能关系的初步研究作一简要介绍，以为其分子设计的诱变改造提供线索。

黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的 drosomycin 是第一个诱导产生的昆虫抗真菌肽，仅对丝状真菌有强的抗性，而细菌和酵母对其不敏感（Fehlbaum *et al.*，1994）。它的基因编码 44 个氨基酸，含有 8 个半胱氨酸（Cys）残基，可形成 4 个二硫键（Cys^{2}-Cys^{44}，Cys^{11}-Cys^{33}，Cys^{19}-Cys^{39}，Cys^{23}-Cys^{41}）（Michaut *et al.*，1996）。用 H2D NMR 研究 drosomycin 的三维结构发现，它包含 α-螺旋和扭曲的三股缠绕的 β-片层结构，这种结构被称为 CSαβ 模体（cysteine stabilized alphabeta motif）（图 1）（Landon *et al.*，1997）。在叔白颜果蝇 *Drosophila triauraria* 发现的 drosomycin-like A/B（Daibo *et al.*，2001）同样由 44 个氨基酸残基组成，保守位点完全相同，也具有 CSαβ 模体结构，即 8 个 Cys 形成了 4 个二硫键，包含有 α-螺旋、β-折叠和环结构，α-螺旋和 β-折叠交替排列。

termicin 是一种在白蚁 *Pseudacanthotermes spiniger* 的血淋巴粒细胞和唾液腺中诱导合成的对丝状真菌和酵母均有抗性的抗真菌肽，它由 36 个氨基酸残基组成，其中含有的 6 个 Cys 残基形成了由 3 个二硫键（Cys^{2}-Cys^{24}，Cys^{2}-Cys^{29}，Cys^{11}-Cys^{31}）组成的

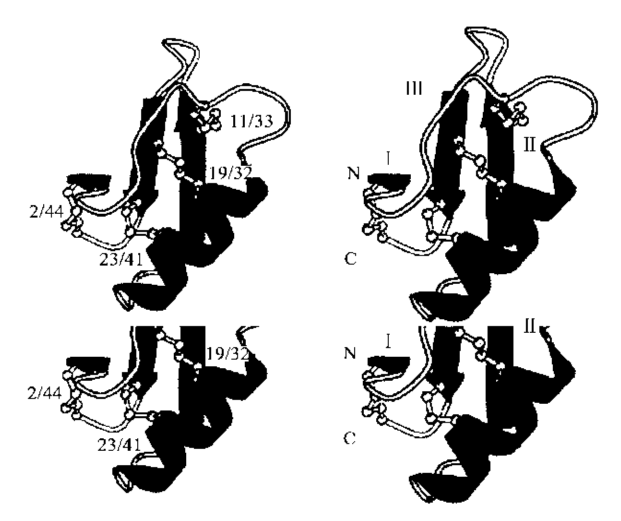


图 1 Drosomycin 三维结构示意图(引自 Landon *et al*., 1997)
Fig. 1 The three-dimension structure of drosomycin (from Landon *et al*., 1997)

的 CS$\alpha\beta$ 模体,又称 $\alpha\beta\beta$ 三维排列($\alpha\beta\beta$ three-dimensional arrangement),这种 $\alpha\beta\beta$ 三维排列同样存在于昆虫防御素族抗菌肽中,但 termicin 的 C 末端酰胺化,又类似于天蚕素族抗菌肽 C 末端酰胺化的特征(Lamberty *et al*., 2001)。烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 的抗真菌肽 heliomicin 主要抗丝状真菌,对酵母菌也有一定的抗性,它也是由 44 个氨基酸残基组成,同样具有一个由 6 个 Cys 形成 3 个二硫键(Cys^7-Cys^{32}, Cys^{18}-Cys^{40}, Cys^{22}-Cys^{42})的 CS$\alpha\beta$ 模体(Lamberty *et al*., 1999)。Tanaka 等(2003)从酸模叶甲 *Gastrophysa atrocyanea* 鉴定到一种内源性滞育特异性多肽 DSP 具有抗真菌活性,能够阻断细胞膜上的 N 型 Ca^{2+} 通道,它由 40 个氨基酸残基组成,也具有 6 个 Cys 形成 3 个二硫键(Cys^7-Cys^{22}, Cys^{11}-Cys^{33}, Cys^{21}-Cys^{39})的 CS$\alpha\beta$ 模体,但它的独特序列特征是与编码在多种昆虫虹彩病毒(insect iridovirus)基因组中的一种未知蛋白 Ct1 有共同序列。

除了 termicin 以外,在白蚁中还发现了一种有 25 个氨基酸残基的抗菌肽 spinigerin,它对某些革兰氏阳性和阴性细菌有一定的抗性,对丝状真菌和酵母的抗性则较强,序列中无 Cys,是一种 α-螺旋结构的线形多肽,与已发现的其他抗菌肽没有同源性(Lamberty *et al*., 2001)。Tomie 等(2003)报道由椰蛀犀金龟 *Oryctes rhinoceros* 分离鉴定到又一种新的抗真菌肽 scarabaecin,由 38 个氨基酸残基组成,对多种植物病原真菌有强的抗性,但对昆虫病原真菌和许多受试细菌仅有微弱的抗性,它的氨基酸序列组成与目前已报道的其他抗真菌肽无明显的相似性,但与多种在无脊椎动物和植物中发现的能与几丁质结合的蛋白质(Tachycitin/Ag-chit/Pj-chit1/Ch-chit/Peritrophin/Tn-IM 和 Hevein/Ac-AMP2/WGA-A ~ D)N 端序列的 6 个保守氨基酸位点完全相同,因而推测属于几丁质结合类的抗真菌蛋白家族。

Fehlbaum 等(1996)由大肠杆菌诱导的斑腹刺益蝽 *Podisus maculiventris* 血淋巴中分离了一种对细菌和真菌都具有广谱抗性的多肽 thanatin。thanatin 有 21 个氨基酸残基,其中含有 2 个 Cys,形成了一对二硫键。N 端第 1 位的 Gly(甘氨酸)到第 7 位的 Pro 形成了伸出的长臂,从 N 端第 8 个氨基酸残基开始到 C 末端则采用了一种反平行的 β-片层结构,二硫键(Cys^{11}-Cys^{18})也在其中,起到了稳定 β-片层的作用,这两股 β-片层包括 8 ~ 12 位氨基酸残基和 17 ~ 21 位的氨基酸残基的缠绕。N 端虽然含有 2 个 Pro 残基,但结构上仍有较大程度的可变性(Mandard *et al*., 1998)。thanatin 的结构不同于其他的昆虫防御素族抗菌肽和抗真菌肽,但与分泌自蛙皮肤的抗微生物肽(frog skin antimicrobial peptide)brevinins 家族有相似性(Fehlbaunm *et al*., 1996)。

4 昆虫抗真菌肽结构与功能的关系

在目前已鉴定的昆虫抗真菌肽中,对其二、三级结构与其相关功能的关系研究还不够深入。最近几年,关于 drosomycin(Michaut *et al*., 1996; Landon *et al*., 1997), heliomicin(Lamberty *et al*., 1999)和 thanatin(Fehlbaunm *et al*., 1996; Mandard *et al*., 1998)的研究已陆续有些报道,在此作些初步介绍。

果蝇抗真菌肽 drosomycin 和从一种小萝卜中发现的植物防御素族抗真菌肽 Rs-AFP2 与蝎子神经毒素 $A\alpha HIT_1$ 存在着很多相似性,如都含有 8 个半胱氨酸残基,形成了 4 个二硫键的 CS$\alpha\beta$ 模体结构,它们第 4 位上的 Ser(丝氨酸)、第 9 位上的 Gly、第 26 位上的 Glu(谷氨酸)和第 31 位上的 Gly 也都严格保守,因此推测 drosomycin 和植物防御素可能起源于植物与动物未分化前同一祖先的分子(Michaut *et al*., 1996; Landon *et al*., 1997)。在 drosomycin 结构中,第 4 位上的 Ser 侧链羟基位于蛋白的核心上,它同第 2 位上的 Val,第 23 位、第 39 位和第 41 位上的 Cys 一起隐藏在疏水簇里,这种氨基酸的严格保守暗示着在它们结构与功能中发挥着重要作用。第 26 位上的 Glu 指向溶剂中,很可能跟 drosomycin 与受体的相互作用有关;第 31 位上的 Gly 被定位在第 Ⅱ 链上,认为是 CS$\alpha\beta$ 模体中螺旋与片层的连接点

(*Landon et al.*, 1997)。

Lamberty 等(1999)将 heliomicin 和它的点突变基因克隆入表达载体，在酵母中融合表达，从中筛选出一种具有抗真菌活性和对革兰氏阳性菌有明显抗性的 heliomicin 突变体蛋白，并将野生型 heliomicin 和这种 heliomicin 突变体与来源于大麦和小麦胚乳的植物防御素 thionin 的^{1}H-NMR、γ 1-H 和 γ 1-P 突变体(Bruix *et al.*, 1993, 1995)进行了三维结构比较，发现它们都有相似的支架结构(scaffolding structure)，也都含有一个由 6 个 Cys 形成 3 个二硫键的 αββ 三维排列。

如前所述，这种 αββ 三维排列的方式存在于烟芽夜蛾抗真菌肽 heliomicin、白蚁抗真菌肽 termicin 和昆虫防御素族抗菌肽中，而果蝇抗真菌肽 drosomycin、植物防御素族抗真菌肽 Rs-AFP2 和 Rs-AFP1 的 CSαβ 模体结构中除首尾的两个 Cys 外，其余 3 个二硫键也是这样的 αββ 三维排列方式。由此暗示这种由 3 个二硫键或 4 个二硫键形成的 CSαβ 模体结构可能与抗真菌活性有重要的联系(Lamberty *et al.*, 1999)。但是 termicin 和 heliomicin 主要抗丝状真菌，对酵母菌有一定的抗性，drosomycin 则只抗丝状真菌，而昆虫防御素族抗菌肽主要抗革兰氏阳性细菌，对丝状真菌和酵母菌不敏感或抗性很低，因此 CSαβ 模体结构的细节差异以及其他功能位点的作用与抗真菌、抗酵母菌和抗细菌功能活性的相互关系是需要进一步研究的问题。通过对昆虫抗菌肽和抗真菌肽突变体的结构与功能分析，可能将有助于深入探讨上述问题，进而指导进行抗真菌肽的分子设计，构建活性更强和抗菌谱更广的新型多肽。

thanatin 的结构与功能存在着密切的关系。thanatin 的右旋体 *D*-thanatin(dextro-thanatin)对革兰氏阴性菌和一些革兰氏阳性菌没有活性，但对真菌和另一些革兰氏阳性菌却有较高的活性，暗示着 thanatin 对病原物存在着多种作用机制。一旦结构改变，就可能失去某些功能(Fehlbaunm *et al.*, 1996)。Fehlbaunm 等(1996)通过对 thanatin 进行不同长度截短突变的活性试验，证实了这一推论。如去除 C 末端第 21 位的 Met，会导致抗革兰氏阴性菌活性的大大降低，进一步去除第 20 位上的 Arg，则导致活性的完全丧失，由此可知第 20 位上的 Arg 和第 21 位上的 Met，对抗革兰氏阴性菌活性是十分必要的。研究发现，Met 的去除会导致 β-片层结构末端的破坏，含亲水残基 Arg 的侧链插入疏水簇中，它的胍基伸到溶剂中，这种定位也是由第 7 位的 Pro、第 9 位的 Ile(异亮氨酸)、第 8 位的 Ile 和第 21 位的 Met 间的相互作用所决定，这使得 C 末端和 Pro^7-Ile^9 间的多肽链在空间上更加接近。Arg 的删除则影响了正电荷的分配，同时 Arg 的阳离子头部也是同革兰氏阴性菌相互作用的位点。通过分析截断的 thanatin 的抑菌效果，发现 thanatin 的结构和功能存在如下对应关系：(1)当缺少 N 端 Gly-Ser-Lys 3 个氨基酸残基时，剩余的 18 个氨基酸残基序列(K18M)构成的分子对细菌的活性没有明显的变化，但对真菌的活性有所降低；(2)当缺少 N 端 5 个氨基酸残基时，剩余的 16 个氨基酸残基序列(V16M)构成的分子只对部分细菌有较好的活性，抗菌谱变窄，对真菌的活性则大大降低；(3)当缺失 N 端 7 个氨基酸残基时，剩余的 14 个氨基酸残基序列(I14M)构成的分子对多数细菌和真菌的活性都有所降低；(4)当缺失 N 端 9 个氨基酸残基时，则除对个别细菌有抗性外，几乎所有活性都丧失掉了；(5)C 末端缺失 1 个氨基酸残基(G20R)、缺失 2 个氨基酸残基(G19Q)、缺失 3 个氨基酸残基(G18C)后，则严重影响了它对革兰氏阴性菌的活性。Fehlbaunm 等(1996)根据上述试验结果和对 thanatin 其他的截短实验以及对 C 或 N 末端添加氨基酸残基等的实验结果进行综合分析，得到决定 thanatin 杀菌活性的 4 个功能区：(1)C 末端环(loop)；(2)C 末端的 3 个残基；(3)N 端的 7 个疏水氨基酸残基；(4)N 末端的 3 个添加氨基酸残基(对抗细菌活性无影响，但对抗真菌活性至关重要)。

5　问题与展望

如前所述，对昆虫抗菌肽，特别是有关天蚕素族抗菌肽结构与功能的关系和人工改造的分子设计等研究较为深入。抗菌肽结构与功能关系的研究需要紧密地与它们的抗菌作用机制相联系。目前对昆虫抗细菌肽的抗菌作用机制的研究结果主要有：(1)孔洞学说：抗菌肽与细胞膜结合导致膜穿孔，细胞内容物外泄；(2)离子通道学说：抗菌肽与细胞膜结合后，多个肽分子共同作用形成离子通道，从而改变了膜的通透性，影响了细胞内生物大分子的形成；(3)抑制细胞呼吸学说：导致细胞呼吸减弱或完全停止；(4)抑制细胞壁形成学说：抑制细胞壁的形成，达到杀菌目的；(5)可变“毯”式模型：肽分子通过与膜脂相互作用来破坏膜屏障而不是形成通道(徐进署和张双全，2002)。

对天蚕素族抗菌肽等大多数抗菌肽的杀菌作用

机制，一般共识与膜穿孔、形成离子通道和正离子肽分子聚集破坏膜屏障有关。但是有关昆虫抗真菌肽的作用机制研究，目前还仅仅停留在初步的试验研究阶段。例如，麻蝇抗真菌肽 AFP 可能与白假丝酵母菌 *Candida albicans* 表面的阴离子相互作用，引起细胞内容物的泄漏，但还没有确切的结构模型表明 AFP 能直接穿透细胞膜（Iijima *et al*., 1993）；heliomicin 的 CS-α-β 基序为许多昆虫防御素族抗菌肽所共有，但它的抑菌活性不受盐离子浓度的影响，而可能有其他途径，譬如与靶细胞上的受体相互作用等（Lamberty *et al*., 1999, 2001）。thanatin 的分子作用方式尚未完全明了，它可能是与细菌脂多糖形成复合物而引起沉淀，导致细胞呼吸减弱或完全停止而达到杀菌效果（Fehlbaum *et al*., 1996）。显然，昆虫抗菌肽和抗真菌肽结构的多样性决定了它们功能和作用方式的多样性（徐进署和张双全，2002），特别是对目前新发现鉴定的十几个昆虫抗真菌肽，它们的结构、功能及作用机制的共性和差别，它们与天蚕素族抗菌肽、昆虫防御素族抗菌肽以及其他抗菌肽在结构、功能与作用机制上的异同等问题，是一个非常复杂而又有重要科学价值的问题，很值得深入研究。我们认为解决这一问题的基本方法仍然是对它们进行突变缺失和突变修饰的结构与功能分析，而人工改造的分子设计在此项研究中至关重要。

近年，国内在研究和发现新的昆虫抗菌肽和抗真菌肽方面也取得一些进展，cicadin 就是国内从中药干蛾蝉 *Cicada flammata* 幼虫中分离鉴定到的仅对丝状真菌显示抗性的抗真菌肽因子（Wang and Ng, 2002）；安春菊等（2003）报道了经不同诱导处理后收集提取的家蝇 *Musca domestica* 幼虫体内耐热总蛋白中，有5种不同分子量的蛋白/肽与抗菌活性有关。为定点诱变修饰 thanatin 和 drosomycin 抗真菌肽因子，黄亚东等（2002b, 2003）克隆表达了 thanatin 基因、thanatin-CAD 双价基因和 drosomycin 基因，表达产物对烟曲霉 *Aspergillus fumigatus* 和绿色木霉 *Trichoderma viride* 均有较好的抑菌效果。翁宏飚等（2003）在大肠杆菌中克隆并高效可溶性地表达了 thanatin 基因。相信随着不断发现和鉴定到新的昆虫抗菌肽和抗真菌肽因子，以及对它们进行人工改造的突变缺失和突变修饰分析研究的深入，有关昆虫抗微生物肽，特别是昆虫抗真菌肽的结构功能关系和作用机制等基础理论问题将得到进一步阐明。

参 考 文 献（References）

An CJ, Shi M, Hao YJ, Sheng CZ, Geng H, Li DS, Du RQ, 2003. Inducement and activity analysis of antibacterial-related proteins/peptides in housefly larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 46 (5): 545–548. [安春菊，石明，郝友进，盛长忠，耿华，李德森，杜荣骞，2003. 家蝇幼虫抗菌相关蛋白/多肽的诱导及抗菌活性分析. 昆虫学报，46 (5): 545–548]

Andreu D, Ubach J, Boman A, Wahlin B, Wade D, Merrifield RB, Boman HG, 1992. Shortened cecropin A-melittin hybrids. *FEBS Letters*, 296 (2): 190–194.

Bruix M, Gonzalez C, Santoro J, Soriano F, Rocher A, Mendez E, 1995. ^{1}H-NMR studies on the structure of a new thionins from barley endosperm. *Biopolymers*, 36: 751–763.

Bruix M, Jimenez MA, Santoro J, Gonzalez C, Colilla FJ, Mendez E, Rico M, 1993. Solution structure of gamma 1-H and gamma 1-P thionins from barley and wheat endosperm determined by ^{1}H-NMR: a structural motif common to toxic arthropod proteins. *Biochemistry*, 32: 715–724.

Bulet P, Dimarcq JA, Hetru C, Lagueux M, Charlet M, Hegy G, van Dorsselaer A, Hoffmann JA, 1993. A novel inducible antibacterial peptide of *Drosophila* carries an O-glycosylated substitution. *J. Biol. Chem.*, 268: 14 893–14 897.

Cai QS, Zhang Y, Zhai CY, 2002. Design of a series of new antibacterial peptide molecules based on computer structure-function analysis software. *J. WCUMS*, 33(3): 447–449. [蔡青松，张艳，翟朝阳，2002. 新型抗菌肽分子的计算机辅助设计. 华西医科大学学报，33(3): 447–449]

Cavallarin L, Andreu D, San Segundo B, 1998. Cecropin A-derived peptides are potent inhibitors of fungal plant pathogens. *Mol. Plant Microbe Interact*, 11(3): 218–227.

Chernysh S, Cociancich S, Briand JP, Hetru C, Bulet P, 1996. The inducible antibacterial peptides of the hemipteran insect *Palomena prasina*: identification of a unique family of proline-rich peptides and of a novel insect defensins. *J. Insect Physiol.*, 42: 81–89.

Christensen B, Fink J, Merrifield RB, Mauzerall D, 1988. Channel-forming properties of cecropins and related model compounds incorporated into planar lipid membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85 (14): 5 072–5 076.

Cociancich S, Dupont A, Hegy G, Lanot R, Holder F, Hetru C, Hoffmann JA, Bulet P, 1994. Novel inducible antibacterial peptides from a hemipteran insect, the sap-sucking bug *Pyrrhocoris apterus*. *Biochem. J.*, 300: 567–575.

Daibo S, Kimura MT, Goto SG, 2001. Upregulation of genes belonging to the drosomycin family in diapausing adults of *Drosophila triauraria*. *Gene*, 278 (1–2): 177–188.

Dou F, Xie W, Dong XY, Xu XX, 1999. The terminal structure plays an important role in the biological activity of CMIV. *Science in China* (*Series C*), 42 (5): 494–500. [窦非，谢维，董雪吟，徐贤秀，2000. 抗菌肽 CMIV 末端结构对其活性的影响. 中国科学（C辑），30(1): 59–64]

Ekengren S, Hultmark D, 1999. *Drosophila* cecropin as an antifungal agent. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 29: 965–972.

Fehlbaum P, Bulet P, Chernysh S, Jean-Paul B, Jean-Pierre R, Letellier L, Hetru C, Hoffmann JA, 1996. Structure-activity analysis of thanatin, a 21-residue inducible insect defense peptide with sequence homolohy to

frog skin antimicrobial peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 93 : 1 221 – 1 225.

Fehlbaum P, Bulet P, Michaut L, Lagueux M, Broekaert WF, Hetru C, Hoffmann JA, 1994. Septic injury of *Drosophila* induces the synthesis of a potent antifungal peptide with sequence homology to plant antifungal peptides. *J. Biol. Chem.*, 269 (52): 33 159 – 33 163.

Hu YL, Hu TS, Lin SK, Su J, Shi GM, Li W, Zhao XZ, Qu XM, 1999. The site-directed mutagenesis and expressing of cecropin B gene. *Pharmaceutical Biotechnology*, 6(4): 193 – 197. [胡云龙，胡泰山，林世康，苏剑，施国民，李伟，赵学忠，屈贤铭，1999. Cecropin B 抗菌肽基因的定向诱变与表达. 药物生物技术，6(4): 193 – 197]

Huang YD, Zheng Q, Li XK, Yao RH, Huang ZR, 2002a. Modification of cecropin AD gene and its expression in *Pichia pastoris*. *Journal of South China University of Technology* (*Natural Science Edition*), 30 (2): 13 – 16. [黄亚东，郑青，李校堃，姚汝华，黄自然，2002a. 抗菌肽 AD 基因的改造及在毕赤酵母中的表达. 华南理工大学学报(自然科学版), 30(2): 13 – 16]

Huang YD, Wang Y, Wen SY, Zen JX, Cao Y, Li XK, Zhong YJ, 2002b. Synthesis and prokaryotic expression of insect antifungal peptide thanatin gene. *Acta Sericologica Sinica*, 28 (2): 104 – 108. [黄亚东，王艳，温硕洋，曾锦绣，曹阳，李校坤，钟仰进，2002b. 昆虫抗真菌肽 Thanatin 基因的合成及原核表达. 蚕业科学，28 (2) : 104 – 108]

Huang YD, Zen JX, Wen SY, Wang Y, Li XK, Zhong YJ, Cao Y, 2003. Synthesis, cloning and expression of the gene of antifungal peptide thanatin-CAD. *Acta Sericologica Sinica*, 29 (2) : 162 – 166. [黄亚东，曾锦绣，温硕洋，王艳，李校坤，钟仰进，曹阳，2003. 昆虫抗真菌肽 Thanatin-CAD 双价基因的合成、克隆及表达. 蚕业科学，29 (2) : 162 – 166]

Iijima R, Kurata S, Natori S, 1993. Purification, characterization, and cDNA cloning of an antifungal protein from the hemolymph of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly) larvae. *J. Biol. Chem.*, 268 (16): 12 055 – 12 061.

Lamberty M, Ades S, Uttenweiler-Joseph S, Brookhart G, Bushey D, Hoffmann JA, Bulet P, 1999. Isolation from the lepidopteran *Heliothis virescens* of a novel insect defensin with potent antifungal activity. *J. Biol. Chem.*, 274 (14) : 9 320 – 9 326.

Lamberty M, Zachary D, Lanot R, Bordereau C, Robert A, Hoffmann JA, Bulet P, 2001. Constitutive expression of a cysteine-rich antifungal and a linear antibacterial peptide in a termite insect. *J. Biol. Chem.*, 276 (6) : 4 085 – 4 092.

Landon C, Sodano P, Hetru C, Hoffmann J, Ptak M, 1997. Solution structure of drosomycin, the first inducible antifungal protein from insects. *Protein Science*, 6 (9) : 1 878 – 1 884.

Li YH, Liu FP, Zhu JM, Zhou TH, Li YQ, 1999. Cloning and preliminary secretion expression of a synthetic gene encoding cecropin A-melittin hybrid in *Escherichia coli*. *Journal of Jinan University* (*Natural Science*), 20(5): 88 – 91. [李燕红，刘飞鹏，朱嘉明，周天鸿，李月琴，1999. 抗菌肽 A-蜂毒肽杂合肽基因在大肠杆菌中的克隆与初步分泌表达. 暨南大学学报(自然科学版), 20(5): 88 – 91]

Lu XF, Yang XY, Cheng JQ, Pei Y, 1999. Insect antibacterial peptide and study progress. *Acta Pharmaceutita Sinica*, 34(2) : 156 – 160. [卢晓风，杨星勇，程惊秋，裴炎，1999. 昆虫抗菌肽及其研究进展. 药学学报，34 (2) : 156 – 160]

Lucca AJ, Bland JM, 1997. Fungicidal activity of cecropin A. *Antimicrobial Agenius Chemotherapy*, 41 (2) : 481 – 483.

Mandard N, Sodano P, Labbe H, Bonmatin JM, Bulet P, Hetru C, Ptak M, Vovelle F, 1998. Solution structure of thanatin, a potent bactericidal and fungicidal insect peptide, determined from proton two-dimensional nuclear magnetic resonance data. *Eur. J. Biochem.*, 256: 404 – 410.

Michaut L, Fehlbaum P, Moniatte M, Dorsselaer AV, Reichhart JM, Bulet P, 1996. Determination of the disulfide array of the first inducible antifungal peptide from insects: drosomycin from *Drosophila melanogaster*. *FEBS Letters*, 395 : 6 – 10.

Pang YM, Duan JA, Qu XM, 2001. Design of synthetic antimicrobial peptides based on relation between structures and activities. *Chinese Bulletin of Life Science*, 13(5): 209 – 213. [庞英明，段金廒，屈贤铭，2001. 昆虫抗菌肽的结构与功能关系及其在分子设计中的应用. 生命科学，13(5): 209 – 213]

Tanaka H, Sato K, Saito Y, Yamashita T, Agoh M, Okunishi J, Tachikawa E, Suzuki K, 2003. Insect diapause-specific peptide from the leaf beetle has consensus with a putative iridovirus peptide. *Peptides*, 24 : 1 327 – 1 333.

Tomie T, Ishiaashi J, Furukawa S, Kobayashi S, Sawahata R, Asaoka A, Tagawa M, Yamakawa M, 2003. Scarabaecin a novel cysteine-containing antifungal peptide from the rhinoceros beetle, *Oryctes rhinoceros*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* (*BBRC*), 37: 261 – 266.

Wang HX, Ng TB, 2002. Isolation of cicadin, a novel and potent antifungal peptide from dried juvenile cicadas. *Peptides*, 23(1) : 7 – 11.

Weng HB, Niu BL, Meng ZQ, Xu MK, 2003. Cloning and fusion expression of the antimicrobial peptide thanatin gene in *Escherichia coli*. *Acta Entomologica Sinica*, 46 (1) : 114 – 117. [翁宏飚，牛保龙，孟智启，徐孟奎，2003. 死亡肽基因的合成及在大肠杆菌中的表达. 昆虫学报，46 (1) : 114 – 117]

Xu JS, Zhang SQ, 2002. Advances in research of the functions of insect antibacterial peptides against pathogenisms. *Acta Entomologica Sinica*, 45 (5) : 673 – 678. [徐进署，张双全，2002. 昆虫抗菌肽对病原微生物作用的研究进展. 昆虫学报，45 (5) : 673 – 678]

Zhang SQ, Yu DW, Ke WZ, Dai ZY, 1998. Raman spectroscopy study of spatial conformation on cecropin. *Journal of Nanjing Normal University* (*Natural Science*), 21(4): 58 – 63. [张双全，余多慰，柯惟中，戴祝英，1998. 抗菌肽 A 与抗菌肽 B 空间构象的喇曼光谱分析. 南京师大学报(自然科学版), 21(4): 58 – 63]

Zheng Q, Bao SX, Yao RH, Su ZH, Huang ZY, Zheng XQ, Wang YG, 1998. Design and synthesis of novel cecropin gene and expression in *Saccharomyces cerevisiae* (Ⅰ)—design and synthesis of hybrid cecropin gene. *Journal of South China University of Technology* (*Natural Science*), 26(3): 60 – 63. [郑青，鲍时翔，姚汝华，苏智慧，黄自然，郑学勤，王宇光，1998. 新型抗菌肽基因的设计、合成及其在酵母中的表达(Ⅰ)—杂合抗菌肽的设计与合成. 华南理工大学学报(自然科学版), 26(3): 60 – 63]

(责任编辑: 黄玲巧)

附录 1　GenBank 和 EMBL 中已登录的部分昆虫抗菌肽名录及序列（迄 2003 年 12 月止）

Appendix 1　Some insect antibacterial peptides from GenBank and EMBL（up to Dec. 2003）

登录号 Accession number	作者 Authors	肽名称 Peptide name	靶昆虫 Target insect	肽大小 Peptide size
A. 鳞翅目昆虫抗菌肽 Antibacterial peptides of Lepidoptera				
1. AAL69980	Mandrioli M，*et al*. 2002	Defensin	*Mamestra brassicae*	98AA
2. AAB39003	Park SS，*et al*. 1995	*Hyphantria* cecropin A3	*Hyphantria cunea*	63AA
3. P01509	Qu Z，*et al*. 1982	Cecropin B precursor	*Antheraea pernyi*	35AA
4. P04142	Teshima T，*et al*. 1986	Cecropin B precursor（Lepidopteran A and B）	*Bombyx mori*	63AA
5. P54684	Chowdhury S，*et al*. 1995	Lebocin 1/2 precursor	*Bombyx mori*	179AA
6. O96059；P81604	Hara S，*et al*. 1995	Moricin 2 precursor	*Bombyx mori*	66AA
7. AAB39002	Park SS，*et al*. 1995	*Hyphantria* cecropin A	*Hyphantria cunea*	63AA
8. AAB39001	Park SS，*et al*. 1995	*Hyphantria* cecropin A1	*Hyphantria cunea*	63AA
9. AAB39000	Park SS，*et al*. 1995	*Hyphantria* cecropin A2	*Hyphantria cunea*	63AA
10. O15946	Furukawa S，*et al*. 1997	Lebocin 4 precursor	*Bombyx mori*	179AA
11. P14666	Qu XM，*et al*. 2002	Cecropin（Antibacterial peptide CMIV）	*Bombyx mori*	35AA
12. P82818	Hara S，*et al*. 1995	Moricin1 precursor	Bombyx mori	66AA
13. P48821	Kim SH，*et al*，1995	Antibacterial peptide；Enbocin precursor	*Bombyx mori*	59AA
14. AAC05493	Kim SH，*et al*. 1998	Antibacterial peptide Enbocin	*Bombyx mori*	59AA
15. P01507	Steiner H，*et al*. 1981	Cecropin A precursor	*Hyalophora cecropia*	64AA
16. P01510	Hultmark D，*et al*. 1982	Cecropin D precursor.	*Hyalophora cecropia*	62AA
17. AAG27716	Zhang SQ，*et al*. 2000	Cecropin CBM2-2	*Bombyx mori*	63AA
18. AAG27715	Li JM，*et al*. 2000	Cecropin CBM2	*Bombyx mori*	63AA
19. AAG27714	Li JM，*et al*. 2000	Cecropin CBM1	*Bombyx mori*	63AA
20. BAB13508	Furukawa S，*et al*. 1997	*Moricin*	*Bombyx mori*	66AA
21. BAA77338	Furukawa S，*et al*. 1998	Moricin 2	*Bombyx mori*	66AA
22. P55796	Hara S，*et al*. 1995	Lebocin 3 precursor	*Bombyx mori*	179AA
23. JC5665	Hara S，*et al*. 1995	Lebocin 3 precursor-silkworm	*Bombyx mori*	179AA
24. JC4247	Hara S，*et al*. 1995	Lebocin 1/2 precursor-silkworm	*Bombyx mori*	179AA
25. AAB35810	Hara S，*et al*. 1995	Moricin	*Bombyx mori*	42AA
26. AAB35218	Chowdhury S，*et al*. 1995	*Lebocin*	*Bombyx mori*	179AA
27. AAB35159	Hara S，*et al*. 1995	Lebocin 3 = antibacterial peptide	*Bombyx mori*	32AA
28. JE0161	Kim SH，*et al*. 1998	Enbocin-silkworm	*Bombyx mori*	59AA
29. 1KV4-A	Hemmi H，*et al*. 2002	Chain A	*Bombyx mori*	42AA
30. P14662	Dickinson L，*et al*. 1988	Bactericidin B-2（Cecropin-like peptide B-2）	*Manduca sexta*	37AA
31. P14663	Dickinson L，*et al*. 1988	Bactericidin B-3（Cecropin-like peptide B-3）	*Manduca sexta*	37AA
32. P14664	Dickinson L，*et al*. 1988	Bactericidin B-4（Cecropin-like peptide B-4）	*Manduca sexta*	37AA
33. P14664	Dickinson L，*et al*. 1988	Bactericidin B-4（Cecropin-like peptide B-4）	*Manduca sexta*	37AA
34. P14665	Dickinson L，*et al*. 1988	Bactericidin B-5P（Cecropin-like peptide B-5）	*Manduca sexta*	61AA
B. 双翅目昆虫抗菌肽 Antibacterial peptides of Diptera				
1. O17513	Rosetto M，*et al*. 1997	Ceratotoxin D precursor	*Ces capitata*	71AA
2. O16137	Lehane MJ，*et al*. 1997	Defensin 2 precursor	*Stomoxys calcitrans*	97AA

续附录 1 Appendix 1（Continued）

登录号 Accession number	作者 Authors	肽名称 Peptide name	靶昆虫 Target insect	肽大小 Peptide size
3. P81603；Q9Y0F0	Lowenberger CA，*et al*. 1995	Defensin C precursor	*Aedes aegypti*	99AA
4. P81417	Sun D，*et al*. 1998	Cecropin A	*Aedes albopictus*	35AA
5. P10891	Lambert J，*et al*. 1989	Phormicin precursor	*Protophormia terraenovae*	94AA
6. P36190	Marchini D，*et al*. 1993	Ceratotoxin A precursor	*Ceratitis capitata*	71AA
7. O17512	Marchini D，*et al*. 1993	Ceratotoxin A precursor 2	*Ceratitis capitata*	71 AA
8. Q17313	Rosetto M，*et al*. 1996	Ceratotoxin C precursor	*Ceratitis capitata*	67AA
9. P18684	Reichhart JM，*et al*. 1989	Diptericin D precursor	*Protophormia terraenovae*	101AA
10. P08375	Okada M，*et al*.1985	SarcotoxinI A precursor	*Sarcophaga peregrina*	63AA
11. P18313	Matsuyama K，*et al*. 1988	Sapecin precursor	*Sarcophaga peregrina*	94AA
12. CAB57822	Reichhart JM，*et al*. 1989	Diptericin	*Protophormia terraenovae*	101AA
13. CAA79936	Bulet P，*et al*. 1993	Drosocin	*Drosophila melanogaster*	64AA
14. Q06589	Rosetto M，*et al*. 1993	Cecropin 1 precursor	*Ceratitis capitata*	63AA
15. Q06590	Rosetto M，*et al*. 1993	Cecropin 2 precursor	*Ceratitis capitata*	63AA
16. P81603	Lowenberger C，*et al*. 1995	Defensin C precursor	*Aedes aegypti*	99AA
17. AAD40117	Lowenberger CA，*et al*. 1999	Defensin isoform C2	*Aedes aegypti*	99AA
18. AAB46810	Cho WL，*et al*. 1996	Defensin A isoform 4	*Aedes aegypti*	37aa
19. AAB46809	Cho WL，*et al*. 1996	Defensin A isoform 3；AaDefA3	*Aedes aegypti*	37aa
20. AAB46808	Cho WL，*et al*. 1996	DefensinA isoform 2；AaDefA2	*Aedes aegypti*	37aa
21. O16825；Q8WSV3	Clark AG，*et al*. 1997	Andropin precursor	*Drosophila mauritiana*	57aa
22. Q8WSV0	Date-Ito A，*et al*. 2002	Andropin precursor	*Drosophila orena*	67aa
23. Q8WSV1	Date-Ito A，*et al*. 2002	Andropin precursor	*Drosophila teissieri*	62AA
24. Q8WPA1	Date-Ito A，*et al*. 2002	Andropin precursor	*Drosophila yakuba*	60AA
25. Q8WSV4	Date-Ito A，*et al*. 2002	Andropin precursor	*Drosophila simulans*	60AA
26. AAD40115	Lowenberger CA，*et al*. 1999	Defensin isoform B2	*Aedes aegypti*	98AA
27. AAB46807	Cho WL，*et al*. 1996	Defensin A ; isoform 1；AaDefA1	*Aedes aegypti*	98AA
28. P21663	Samakovlis C，*et al*. 1991	Andropin precursor	*Drosophila melanogaster*	57AA
29. S13450	Samakovlis C，*et al*. 1991	Andropin precursor fruit fly	*Drosophila melanogaster*	57AA
30. A47103	Bulet P，*et al*. 1993	Drosocin precursor fruit fly	*Drosophila melanogaster*	64AA
31. P36191	Marchini D，*et al*. 1993	Ceratotoxin B	*Ceratitis capitata*	29AA
32. AAA87381	Marchini D，*et al*. 1995	Ceratotoxin A	*Ceratitis capitata*	71AA
33. CAA40046	Kylsten P，*et al*. 1990	Andropin	*Drosophila melanogaster*	57AA
34. P81602	Lowenberger C，*et al*. 1995	Defensin B	*Aedes aegypti*	56AA
35. S04634	Reichhart JM，*et al*. 1989	Diptericin D	*Protophormia terraenovae*	101AA
C. 鞘翅目昆虫抗菌肽 Antibacterial peptides of Coleoptera				
1. AAB20746	Bulet P，*et al*. 1991	Peptide C	*Zophobas atratus*	43AA
2. AAB20745	Bulet P，*et al*. 1991	Peptide B	*Zophobas atratus*	43AA
3. AAB36306	Miyanoshita A，*et al*. 1996	Defensin = 4.5 kdainsect antibacterial peptide	*Allomyrina dichotoma*	43AA
4. Q10745	Miyanoshita A，*et al*. 1996	Defensin	*Allomyrina dichotoma*	43AA
5. BAA36402	Ishibashi J，*et al*. 1998	Oryctin	*Oryctes rhinoceros*	85AA
6. P80032	Bulet P，*et al*. 1991	Coleoptericin	*Zophobas atratus*	74AA

续附录 1 Appendix 1 (Continued)

登录号 Accession number	作者 Authors	肽名称 Peptide name	靶昆虫 Target insect	肽大小 Peptide size
7. AAK35160	Ueda K, *et al*. 2000	Defensin 1 precursor	*Acalolepta luxuriosa*	83AA
8. P81592	Imamura M, *et al*. 1999	Acaloleptin A1	*Acalolepta luxuriosa*	71AA
9. C41711	Bulet P, *et al*.1991	Defensin C-beetle	*Zophobas atratus*	43AA
10. A41711	Bulet P, *et al*. 1991	Coleoptericin- beetle	*Zophobas atratus*	74AA
11. P80033	Bulet P, *et al*. 1991	Defensin, isoforms B and C	*Zophobas atratus*	43AA
12. AAB20744	Bulet P, *et al*. 1991	Coleoptericin = peptide A	*Zophobas atratus*	74AA
D. 半翅目昆虫抗菌肽 Antibacterial peptides of Hemiptera				
1. P37363; P80309	Cociancich S, *et al*. 1994	Hemiptericin	*Pyrrhocoris apterus*	133AA
2. BAA08667	Miura K, *et al*. 1995	Probable precursor of antibacterial peptide	*Riptortus clavatus*	150AA
3. P37364	Cociancich S, *et al*. 1994	Defensin	*Pyrrhocoris apterus*	43AA
4. P37363	Cociancich S, *et al*. 1994	Hemiptericin	*Pyrrhocoris apterus*	133AA
5. Q27906	Miura K, *et al*. 1996	Probable antibacterial peptide precursor	*Riptortus clavatus*	150AA
6. P80410	Chernysh S, *et al*. 1996	Metalnikowin IIB	*Palomena prasina*	16AA
7. P80411	Chernysh S, *et al*. 1996	Metalnikowin III	*Palomena prasina*	16AA
8. P80408	Chernysh S, *et al*. 1996	Metalnikowin I	*Palomena prasina*	15AA
9. P80407	Chernysh S, *et al*. 1996	Defensin	*Palomena prasina*	43AA
10. Q27905	Miura K, *et al*. 1996	Polyprotein precursor	*Riptortus clavatus*	678AA
11. P37362	Cociancich S, *et al*. 1994	Pyrrhocoricin	*Pyrrhocoris apterus*	20AA
E. 等翅目昆虫抗菌肽 Antibacterial peptides of Isoptera				
1. P82321	Lamberty M, *et al*. 2001	Termicin	*Pseudacanthotermes spiniger*	36AA
2. P82357	Lamberty M, *et al*. 2001	Spingerin	*Pseudacanthotermes spiniger*	25AA
F. 膜翅目昆虫抗菌肽 Antibacterial peptides of Hymenoptera				
1. P81463	Rees JA, *et al*. 1997	Abaecin	*Bombus pascuorum*	39AA
2. Q06602	Casteels P, *et al*. 1989	Apidaecin precursor, type 73	*Apis mellifera*	283AA
3. P81462	Rees JA, *et al*. 1997	Defensin	*Bombus pascuorum*	51AA
4. P81464	Rees JA, *et al*. 1997	Apidaecin	*Bombus pascuorum*	17AA
5. P17722	Fujiwara S, *et al*. 1990	Royalisin precursor (Defensin)	*Apis mellifera* (Honeybee)	95AA
6. P15450	Casteels P, *et al*. 1990	Abaecin precursor	*Apis mellifera*	53AA
7. Q10416	Casteels-Josson K, *et al*. 1994	Hymenoptaecin precursor	*Apis mellifera*	129AA
8. P11525	Casteels P, *et al*. 1989	Pro-apidaecin IA	Unknown	26AA
9. P35581	Casteels P, *et al*. 1989	Apidaecin precursor, type 22	*Apis mellifera*	144AA
10. P81438	Mackintosh JA, *et al*. 1998	Formaecin 1	*Myrmecia gulosa*	16AA
11. P81437	Mackintosh JA, *et al*. 1998	Formaecin 2	*Myrmecia gulosa*	16AA
12. P81437	Mackintosh JA, *et al*. 1998	Formaecin 2	*Myrmecia gulosa*	16AA
G. 合成的抗菌肽 Artificial antibacterial peptides				
1. AAA93036	Choi K, *et al*. 1996	Cecropin analog S1 [synthetic construct]	Synthetic construct	63AA

附录 2　GenBank 和 EMBL 数据库中抗真菌肽名录及序列(迄 2003 年 12 月止)

Appendix 2　Insect antifungal peptides from GenBank and EMBL (up to Dec. 2003)

登录号 Accession number	作者 Authors	肽名称 Peptide name	靶昆虫 Target insect	肽大小 Peptide size
A. 半翅目昆虫抗真菌肽 Antifungal peptide of Hemiptera				
* 1. P55788	Fehlbaum P, *et al*. 1996	Thanatin	*Podisus maculiventris*	21AA
2. P83417	Bulet P, *et al*. 2002	Megourin 1	*Megoura viciae*	63AA
3. P83418	Bulet P, *et al*. 2002	Megourin 2	*Megoura viciae*	63AA
4. P83419	Bulet P, *et al*. 2002	Megourin 3	*Megoura viciae*	63AA
B. 鳞翅目昆虫抗真菌肽 Antifungal peptide of Lepidoptera				
* 1. AAM46728	Podsiadlowski L, *et al*. 2001	Gallerimycin	*Galleria mellonella*	76AA
* 2. P81544	Lamberty M, *et al*. 1999	Defensin Heliomicin	*Heliothis virescens*	44AA
3. P83413	Bulet P, *et al*. 2002	Cecropin A	*Heliothis virescens*	35AA
4. P83414	Bulet P, *et al*. 2002	Cecropin B (Fragment)	*Heliothis virescens*	33AA
5. P83415	Bulet P, *et al*. 2002	Cecropin C (Fragment)	*Heliothis virescens*	33AA
6. P83421	Bulet P, *et al*. 2002	Psychimicin	*Oiketicus kirbyi*	45AA
7. P83411	Bulet P, *et al*. 2002	Spodomicin	*Spodoptera littoralis*	40AA
8. P83420	Bulet P, *et al*. 2002	Cecropin	*Oiketicus kirbyi*	32AA
C. 双翅目昆虫抗真菌肽 Antifungal peptide of adaiptera				
* 1. P41964; Q9VZQ2	Fehlbaum P, *et al*. 1994	Drosomycin precursor	*Drosophila melanogaster*	70AA
* 2. Q24395; Q9V7B9	Levashina E, *et al*. 1995	Metchnikowin precursor	*Drosophila melanogaster*	52AA
* 3. Q08617	Iijima R, *et al*. 1993	Antifungal protein precursor, AFP	*Sarcophaga peregrina*	85AA
4. AAL85582	Morlais I, *et al*. 2001	Cecropin A precursor	*Aedes aegypti*	59AA
5. AAF59831	Lowenberger CA, *et al*. 1999	Cecropin A	*Aedes aegypti*	59AA
D. 鞘翅目昆虫抗真菌肽 Antifungal peptide of Coleoptera				
* 1. Q27270	Jung HY, *et al*. 1995	Tenecin 3 precursor	*Tenebrio molitor*	96AA
* 2. BAC54897	Tomie T, *et al*. 2002	Scarabaecin	*Oryctes rhinoceros*	66AA
* 3. Q25055	Lee SY, *et al*. 1995	Holotricin 3 precursor	*Holotrichia diomphalia*	104AA
E. 同翅目抗真菌肽 Antifungal peptide of Homoptera				
* 1. P83282	Wang H, *et al*. 2002	Cicadin	*Cicada flammata*	55AA
F. 膜翅目抗真菌肽 Antifungal peptide of Hymenoptera				
1. P81462	Rees JA, *et al*. 1997	Defensin	*Bombus pascuorum*	51AA
2. P82423	Orivel J, *et al*. 2001	Ponericin W1	*Pachycondyla goeldii*	25AA
3. P82424	Orivel J, *et al*. 2001	Ponericin W2	*Pachycondyla goeldii*	25AA
4. P82425	Orivel J, *et al*. 2001	Ponericin W3	*Pachycondyla goeldi*	26AA
5. P82426	Orivel J, *et al*. 2001	Ponericin W4	*Pachycondyla goeldii*	26AA
6. P82427	Orivel J, *et al*. 2001	Ponericin W5	*Pachycondyla goeldii*	24AA
7. P82417	Orivel J, *et al*. 2001	Ponericin G4	*Pachycondyla goeldii*	29AA
8. P82419	Orivel J, *et al*. 2001	Ponericin G6	*Pachycondyla goeldii*	18AA
9. P82420	Orivel J, *et al*. 2001	Ponericin G7	*Pachycondyla goeldii*	19AA
G. 等翅目昆虫抗真菌肽 Antifungal peptide of Isoptera				
* 1. P82321	Lamberty M, *et al*. 2001	Termicin	*Pseudacanthotermes spiniger*	36AA
* 2. P82357	Lamberty M, *et al*. 2001	Spinigerin	*Pseudacanthotermes spiniger*	25AA

* 表示新鉴定发现的昆虫抗真菌肽 Representing the newly identified insect antifungal peptide.